

# Koncentracije cinka u posteljičnom tkivu u normalnim i patološkim trudnoćama

---

Milin, Čedomila; Verbanac, Donatella; Patrk, Jogen; Ciganj, Zlatko; Frković, Aleksandra; Petrović, Oleg

Source / Izvornik: **Medicina, 1995, 96, 35 - 38**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:629096>

Rights / Prava: [Attribution 4.0 International](#)/[Imenovanje 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-29**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



## KONCENTRACIJE CINKA U POSTELJIČNOM TKIVU U NORMALNIM I PATOLOŠKIM TRUDNOĆAMA

### ZINC CONCENTRATIONS IN PLACENTAL TISSUE IN NORMAL AND PATHOLOGICAL PREGNANCIES

Čedomila Milin<sup>1</sup>, Donatella Verbanac<sup>1</sup>, Jogen Patrk<sup>1</sup>, Zlatko Ciganj<sup>2</sup>,  
Aleksandra Frković<sup>3</sup> i Oleg Petrović<sup>3</sup>

#### SAŽETAK

ICP spektrometrija je nova metoda atomske emisijske spektrometrije koja je vrlo upotrebljiva u različitim područjima ljudske djelatnosti pa tako i u medicini. Zbog svoje brzine, preciznosti, velikog koncentracijskog raspona i multielementarnosti može se upotrebljavati u organskim i vodenim uzorcima.

U radu je prikazano mjerenje koncentracije cinka u humanoj posteljici, pomoću ICP spektrometrije, s pretpostavkom stvaranja uvjeta koji bi omogućili definiranje referentnih vrijednosti cinka u posteljici normalnih i poremećenih trudnoća. Sva određivanja provedena su korištenjem najnovijih tehnika i metoda koje se koriste u tu svrhu (mikrovalna digestija u kombinaciji s ICP spektrometrijom). Ovim preliminarnim ispitivanjima nisu nađene statistički značajne razlike u koncentracijama cinka u posteljicama pacijentica, uspoređivanjem normalnih trudnoća s patološkim trudnoćama i blizanačkom trudnoćom. Metoda analize cinka pokazala se kao vrlo prikladna za mjerenje koncentracije ovog oligoelementa u posteljici.

Rezultati rada ukazuju na potrebu obuhvaćanja puno većeg ispitnog uzorka, a u cilju dobivanja relevantnih podataka o koncentraciji cinka u posteljici normalnih i patoloških trudnoća.

**KLJUČNE RIJEČI:** elementi u tragovima, cink, ICP spektrometrija, posteljica

#### UVOD

Danas se zna da je cink esencijalan element, potreban za potpuno iskazivanje biološke aktivnosti čak više od 300 metaloenzima<sup>1</sup>. Cink je oligoelement potreban za rast, sintezu proteina, keratinizaciju kože.

Ustanove: 1. Zavod za kemiju i biokemiju, Medicinski fakultet u Rijeci, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka. 2. INA - rafinerija nafte Urinj, 51221 Kostrena. 3. Klinika za ginekologiju i porodništvo, Klinički bolnički centar Rijeka, 51000 Rijeka

Prispjelo: 28. srpnja 1997.

Prihvaćeno: 23. prosinca 1997.

Adresa za dopisivanje: Prof. dr. Čedomila Milin, Zavod za kemiju i biokemiju - Medicinski fakultet Rijeka, B.Branchetta 20, 51000 Rijeka, tel./faks: 051 651 135, e-mail: Cedomila.Milin@mamed.medri.hr

#### ABSTRACT

ICP spectrometry is a novel method of atomic emission spectrometry which can be used in a very different activity areas and in medicine, as well. Because of its velocity, precision, large concentration range and parallel determination of different elements, this technique can be used for organic and water samples with success.

In an attempt to provide real conditions for determination of zinc reference values in human placenta during normal and pathological pregnancy, the determination of zinc concentration in human placenta by ICP spectrometry, is described in this paper. All determinations were made using recently developed techniques and methods, which are nowadays available for this purpose (microwave digestion in combination with ICP spectrometry). In these preliminary investigations, a significant statistical difference was not observed when we compared normal to pathological and twin pregnancy. The simplicity of analytic procedure set this method as a very suitable for measuring zinc concentration in placenta.

The obtained results pointed out to the necessity of much more samples which have to be taken in to consideration, with the aim to obtain the relevant information about zinc concentration in human placenta during normal and pathological pregnancy.

**KEY WORDS:** trace elements, zinc, ICP spectrometry, placenta.

On regulira sposobnost kontrakcije mišića, važan je za održavanje acidobazne ravnoteže organizma. Cink normalizira djelovanje prostate i važan je za razvoj svih organa za reprodukciju, pa ga nalazimo i u spermijima. Sudjeluje u procesu vida, a ima važnu ulogu i u normalnom funkcioniranju imunološkog odgovora. Novija istraživanja potvrđuju njegovu važnost za funkcioniranje mozga i liječenje shizofrenije. Nadalje, cink je potreban u sintezi DNK i ima ulogu u održavanju konfiguracije molekule RNK<sup>2</sup>. Od posebnog interesa istraživača su specifične proteinske domene koje omogućuju pravilno vezivanje proteina na DNK, a u svom središtu sadrže cink. Nazivaju se "zinc finger" domenama<sup>3</sup>.

Niz enzima sadrži cink koji omogućuje vezanje supstrata za aktivno središte tih enzima. Kao strukturni dio molekule cink se nalazi u karboanhidrazi karboksipeptidazi, alkohol-dehidrogenazi, malat-dehidrogenazi, glutamat-dehidrogenazi, laktat-hidrogenazi, RNK polimerazi, DNK polimerazi, timidin kinazi, alkalnoj fosfatazi i posebno važnoj superoksid-dismutazi<sup>2</sup>.

Koncentracija cinka u serumu mijenja se u mnogih bolesti. Povećana koncentracija cinka u serumu (hipercinkemija) dosta je rijetka i nalazi se u hipertenziji, eozinofiliji, multiplom mijelomu i katkada u megaloblastičnoj anemiji<sup>4</sup>. Organizam je izloženiji deficitu cinka do kojeg može doći zbog nasljednog poremećaja u metabolizmu cinka, kao što je slučaj u acrodermatitis enterohepatica, zatim zbog neadekvatne prehrane, što je najčešće, ili pak u sklopu drugih patoloških stanja organizma. Acrodermatitis enterohepatica je autosomno recesivno nasljedna bolest u kojoj dolazi do karakterističnih promjena na koži, alopecije i distrofije uz male koncentracije cinka u serumu, mokraći i u kosi. U toj bolesti smanjena je crijevna apsorpcija cinka, odnosno, negativna je "tzv. sirova ravnoteža cinka" (engl. crude zinc balance) pri čemu se više cinka izlučuje iz organizma, nego što se u organizam unosi. Smatra se da su snižene vrijednosti cinka u serumu i njegov kronični deficit česti i da bi terapija cinkom trebala biti isto tako važna kao i terapija željezom<sup>5</sup>.

Češće do deficita cinka dolazi zbog neadekvatne prehrane. Naime najveći dio cinka iz hrane izgubi se prilikom prerade ili ga i nema u mjerljivim količinama ako je tlo oskudno hranjivim sastojcima. Deficit može biti i posljedica nekih bolesti (malapsorpcijski sindrom) ili terapije anabolicima ili kelatorima poput penicilamina. Kao posljedica deficita cinka javlja se zastoj u rastu i sazrijevanju skeleta, zastoj u razvoju spolnih organa i atrofija testisa, hepatosplenomegalija, gubitak osjeta okusa i mirisa, gubitak apetita, podložnost infekcijama, slabo zaraštavanje rana, ulceracije, dermatitis i proljevi<sup>4,5</sup>.

Snižena koncentracija cinka u serumu (hipocinkemija) javlja se i u graviditetu, a odraz je deficita cinka u stanicama, s obzirom da fetus za svoj rast troši majčin cink. Nadalje, tijekom trudnoće, smanjeni unos cinka i snižene vrijednosti cinka u plazmi u izravnoj su korelaciji s povećanim rizikom izazivanja prijevremenog porođaja i pobačaja. Smatra se da je jedan od uzroka suprimirana aloreaktivna aktivacija T-stanica<sup>4</sup>.

Poremećaji povezani s deficitom cinka najviše dolaze do izražaja tijekom intrauterinog razvoja fetusa. S obzirom da posteljica predstavlja vezu fetusa sa vanjskim svijetom, mjerenje cinka u posteljici predstavlja vrlo važan pokazatelj kojim se može dobiti izravan uvid u odvijanje čitavog niza razvojnih procesa fetusa<sup>6</sup>.

Cijeli niz godina znanstvenicima i liječnicima je mjerenje elemenata u tragovima predstavljalo veliki tehnički i organizacijski problem. Naime, iako su izvanredno važni, elementi u tragovima, kao što im i samo ime govori, prisutni su u organizmu u vrlo malim količinama. Njihova je koncentracija u pojedinim tkivima u fiziološkim uvjetima vrlo niska<sup>7</sup>.

Zahvaljujući razvoju tehnike postalo je moguće odrediti točne vrijednosti pojedinog elementa u cijelom nizu različitih tkiva i tjelesnih tekućina. ICP spektrometrija (engl. Inductively Coupled Plasma Spectrometry) je nova metoda atomske spektrometrije koja je zbog svojih osobina (brzina, preciznost, širok koncentracijski raspon određivanja, multielementarnost, jednostavnost mjerenja i pripreme uzoraka) iznimno pogodna i korisna u sljedećim situacijama: kada imamo mnogo uzoraka, kada mjerimo koncentraciju mnogih elemenata, kada imamo veliki raspon koncentracija, kada imamo uzorke u kojih postoji mogućnost interelementarnog efekta; i uz sve to veliki broj elemenata se može određivati bez dodatne opreme (potrebna je samo otopina elemenata)<sup>8,9,10</sup>.

Cilj ovog rada bio je izmjeriti koncentracije cinka u humano posteljici pomoću ICP spektrometrije, kao jedne nove, vrlo sofisticirane i precizne metode određivanja. Tako dobivene vrijednosti za našu sredinu željele su se usporediti u posteljici tijekom normalne trudnoće kao i u raznim patološkim stanjima trudnoće.

## MATERIJAL I METODE

Na Klinici za ginekologiju i porodništvo KBC Rijeka tijekom više mjeseci skupljani su uzorci ljudske posteljice. Naknadnim pregledom trudničkih knjižica i partograma, 107 ispitivanih uzoraka grupirano je ovisno o tijeku trudnoće u četiri skupine:

1. Normalne terminske trudnoće (69 uzoraka)
2. Intrauterini zastoj fetalnog rasta (13 uzoraka)
3. Prijevremeni porod (13 uzoraka)
4. Blizanačka trudnoća (12 uzoraka)

### Skupljanje uzoraka

Uzorci ljudske posteljice mase od 1,5 do 3,0 g uzorkovani su neposredno nakon poroda. Uzorkovano je iz središnjeg dijela, čitave duljine posteljice, a uglavnom je udaljenost od ruba posteljice iznosila oko 10 cm. Budući da pupkovina može biti različito inserirana u posteljicu, prilikom uzorkovanja nije se uzimao uzorak s jednake udaljenosti od insercije pupkovine. Uzorci su se bez ispiranja stavljali u sterilnu staklenu posudu i donosili na analizu koja se provodila odmah, bez prethodnog zamrzavanja uzoraka.

### Priprema uzorka

Nakon odvage uzorci su sušeni tijekom 5 sati pri temperaturi od 105°C. Nakon sušenja ohlađene staklene bočice ponovno su vagane kako bi se odredila suha težina uzoraka.

Uzorci su zatim tretirani s 3,0 ml koncentrirane otopine nitratne kiseline (HNO<sub>3</sub>, "Kemika" Zagreb) i s 0,5 ml 30 %-tne otopine vodikova peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, "Kemika", Zagreb). Nakon toga slijedila je digestija uzoraka u mikrovalnoj peći MLS 1200 Mega microwave digestion system with MDR technology tijekom 5 minuta pri 300 W. Zatim su uzorci podvrgnuti tijekom 30 sekundi 0 W, da bi nakon toga slijedila digestija na 600 W u trajanju od 5 minuta. Digestija je završavala ventilacijom u trajanju od 1 minute. Paralelno se u postupak digestije moglo postaviti 10 uzoraka. Nakon hlađenja u hladnoj vodi tijekom 15 minuta, uzorci su prebačeni u odmjerne tikvice od 10 ml i nadopunjeni do oznake.

Mjerenje koncentracije cinka u uzorcima posteljnice pomoću ICP spektrometra. Prethodno pripremljeni uzorci uneseni su u ICP spektrometar uz pomoć pneumatske nebulizacije. Mjerenja su provedena na Philips PU 7000 ICP spektrometru s ASTM D 19756-91 metodom (1kW snage, 12 L/min hlađenje, 38 psi nebulizacijski tlak), pri valnoj duljini od 213,856 nm.

Standardna otopina cinka (Merk, Darmstat) od 1000 ppm služila je za pripremu odgovarajuće standardne krivulje. Pri postojećim eksperimentalnim uvjetima najniža granica detekcije iznosila je 0,05 ppm uz 3 % relativno standardno odstupanje.

Sve su dobivene vrijednosti cinka izražene kao mg na jedinicu suhe mase tkiva posteljnice.

### Statistička analiza

Dobiveni rezultati mjerenja cinka u četiri različite skupine analizirani su testom analize varijance ANOVA, kojim su se usporedile rezultati u pojedinim skupinama međusobno, kao i u odnosu na kontrolnu skupinu (cink u normalnim trudnoćama).

### REZULTATI I RASPRAVA

Poteškoće s kojima se najčešće susrećemo prilikom mjerenja koncentracije cinka u biološkim uzorcima jesu: mala količina uzorka za analizu, potpuna i učinkovita digestija vezivnih i masnih ostataka u uzorku i niska koncentracija samog cinka. Ti problemi često dovode do određivanja nižih koncentracija cinka od onih koje su u uzorku stvarno prisutne. Stoga priprema uzorka za analizu, digestija i analitički postupak zavređuju posebnu pozornost<sup>11</sup>.

Razvojem novih tehnologija postalo je moguće smanjiti pogreške u određivanju točnih koncentracija pojedinog elementa u tragovima u biološkim uzorcima. Posebno je važnost određivanja proširena na uzorke tkiva, dok se uzorci seruma danas sve više koriste kao orijentacijski testovi.

Posteljica je novi organ koji se stvara u trudnoći i jedini organ koji je sastavljen od tkiva dviju osoba: majke i ploda. Ona predstavlja vezu ploda s vanjskim svijetom, a ujedno je i zaštita ploda od štetnog utjecaja vanjskog svijeta. Funkcije posteljice su mnogostruke: nutritivna, endokrina, cirkulacijska, ekskretorna i zaštitna.

Mnoga patološka stanja u trudnoći odražavaju se na posteljici, odnosno poremećaji homeostaze posteljice mogu dovesti do različitih patoloških stanja trudnoće, pa je makroskopski i po potrebi mikroskopski pregled posteljice nakon poroda obavezan. Nadalje, različitim biokemijskim testovima na tkivu posteljice mogu se dobiti važni podaci koji upućuju na etiopatogenezu različitih patoloških stanja trudnoće<sup>12</sup>.

U ovom radu mjerena je koncentracija cinka u ljudskoj posteljici pomoću ICP spektrometrije, kao jedne nove, vrlo osjetljive i precizne metode određivanja. Štoviše, u kombinaciji s mikrovalnom digestijom koja je korištena za pripremu uzorka prije samog analitičkog određivanja osigurana je kompletna raščlamba tkiva. Prilikom rada obrađeno je više od stotinu uzoraka posteljice.

Tablica 1. Koncentracije cinka u tkivu posteljice grupirani po ispitivanim skupinama

Ispitivana skupina	Broj uzoraka	Koncentracija cinka (µg/g suhe težine tkiva)
Normalna terminska trudnoća	69	56,43 ± 10,81
Intrauterini zastoj fetalnog rasta	13	62,16 ± 12,14
Prijevremeni porod	13	66,46 ± 9,83
Blizanačka trudnoća	12	57,47 ± 10,12

(koncentracije cinka predstavljaju srednju vrijednost ± standardna pogreška)

U tablici 1. prikazane su vrijednosti koncentracije cinka u posteljici po ispitivanim skupinama. Analiza varijanci pokazala je da ne postoji statistički značajna razlika u izmjerenim koncentracijama cinka između normalnih terminskih trudnoća i ostalih promatranih skupina (intrauterini zastoj fetalnog rasta, prijevremeni porod, blizanačka trudnoća); [F (3,103) = 1,82; p = 0,1477].

Dobivene koncentracije cinka tkiva posteljice u normalnim terminskim trudnoćama su 56,43 ± 10,81 mg/g suhe težine posteljice. U postupak su uzete

vrijednosti suhe težine posteljice, kako bi se eventualne pogreške zbog akumulacije vode izbjegle. Prosječna je vrijednost koncentracije cinka za 13 slučajeva u kojih je zamjećen intrauterini zastoj rasta ploda  $62,16 \pm 12,14$  mg/g suhe težine posteljice. Jednaki broj slučajeva kao i za intrauterini zastoj rasta fetusa, zabilježen je tijekom provedenog ispitivanja i za prijevremeni porod. U toj je ispitivanoj skupini srednja vrijednost koncentracije cinka u posteljici iznosila  $66,46 \pm 9,83$  mg/g suhe težine tkiva. U 12 posteljica dobivenih nakon poroda blizanaca koncentracija cinka bila je  $57,47 \pm 10,12$  mg/g suhe težine tkiva posteljice. Možemo zaključiti da se iz dobivenih vrijednosti odmah uočava da veća i bitnija razlika među pojedinim ispitivanim skupinama ne postoji.

Nakon provedene statističke analize nisu pronađene statistički značajne razlike u koncentracijama cinka u normalnim terminskim trudnoćama i ostalim patološkim stanjima razmatranim tijekom ovog ispitivanja (intrauterini zastoj fetalnog rasta, prijevremeni porod, blizanačka trudnoća). Ta činjenica upućuje na nužnost provođenja dodatnih ispitivanja na znatno većem broju uzoraka (50 - 60 uzoraka), kada su patološke trudnoće u pitanju.

Nadasve je važno točno odrediti koncentraciju pojedinih elemenata u tragovima tijekom trudnoće i u majke i u fetusa, odnosno ploda. Postoje podaci dobiveni ovakvim ispitivanjima koji mogu dati uvid u tijek i način sazrijevanja ploda. Najpotpuniji pregled daje paralelno određivanje koncentracije elemenata u tragovima u krvi majke i krvi pupkovine, što u svom radu navodi i Malhotra<sup>12</sup>. Zajedno sa svojim suradnicima iz Birminghama, pokazao je da se koncentracija cinka u placenti kod patoloških i normalnih trudnoća nije razlikovala, već da razlika postoji u koncentraciji cinka između normalnih trudnoća i trudnoće u zaostalog intrauterinog rasta. U takve patološke trudnoće uvidjelo se da je koncentracija cinka u krvi pupkovine značajno snižena u odnosu na normalnu trudnoću. Ong i suradnici određivali su koncentraciju cinka i bakra u krvi majke i u krvi pupkovine ionskom kromatografijom s ciljem praćenja tih elemenata u fazama trovanja trudnica s kadmijem i živom<sup>13</sup>.

Podaci dobiveni ispitivanjem sadržaja i mjerenjem pojedinih elemenata u tragovima u tkivu posteljice pokazuju da je koncentracija elemenata u tragovima unutar posteljice viša od koncentracije istih elemenata prisutnih u krvi majke i krvi pupkovine. Pojedini autori ističu važnost mjerenja koncentracije elemenata u tragovima u tekućini izvanembrionalnog celoma (engl. extraembryonic coelom)<sup>14</sup>.

Možemo na kraju zaključiti da je za dobivanje mjerodavnijeg i vjerodostojnijeg uvida u kretanje kon-

centracije cinka u posteljici u različitim stanjima trudnoće potrebno obuhvatiti mnogo veći (najmanje pet puta veći) broj uzoraka, ali i pokušati doći do drugih uzoraka, poput krvi pupkovine i krvi majke. Ti bi podaci zasigurno svaki od njih ponaosob, ali i zajedno mogli dati cjelovitiju sliku stanja ploda tijekom devet mjeseci trudnoće.

## LITERATURA

- 1) Wellinghausen N, Kirchner H, Rink L. The immunobiology of zinc. *Trends Immunol. Today* 1997;4:519-21.
- 2) Verbanac D, Milin Č. Cink-značajan čimbenik u očuvanju zdravlja. *Gospodarstvo i okoliš* 1995;3:136-40.
- 3) Schwabe JWR, Rhodes D. Beyond zinc fingers: steroid hormone receptors have a novel structural motif for DNA recognition. *TIBS* 1991;6:291-6.
- 4) Prasad AS, Cavdar AO, Brewer GJ, Aggett PJ. Zinc Deficiency in Human Subjects. In: Alan R Liss (ed), Inc., New York, 1983; 57-81.
- 5) Fraker PJ, Gershwin ME, Good RA, Prasad A. Interrelationships between zinc and immune function. *Fed Proc* 1986; 45:1474-9.
- 6) Jameson S. Zinc status in pregnancy: the effect of zinc therapy on perinatal mortality, prematurity and placental ablation. *Ann N York Acad Sci* 1993;678:178-92.
- 7) Frausto da Silva JJR, Williams RJP. *The Biological Chemistry of the Elements; The Inorganic Chemistry of Life*. Oxford: Clarendon Press, 1993.
- 8) Karanassios V, Horlick G. Direct sample insertion devices for inductively coupled plasma spectrometry. *Spectrochimica Acta Rev* 1990;13:89-166.
- 9) Ciganj Z, Malnar J, Podobnik M. Primjena ICP spektrometra u praćenju kvalitete aditiva, proizvodnji mazivih ulja i ulja u primjeni. *Goriva i maziva* 1996;35:419-32.
- 10) Grobrenski Z, Nölte. Recent innovation in the Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy (ICP-OES). *Kemija u industriji* 1997;46:113-7.
- 11) Verbanac D, Milin Č, Domitrović R, Giacometti J, Pantović R, Ciganj Z. Determination of Standard Zinc Values in the Intact Tissues of Mice by ICP Spectrometry. *BiolTrace El Res* 1997;57:91-6.
- 12) Malhotra A, Fairweather Tait SJ, Wharton PA, Gee H. Placental zinc in normal and intra-uterine growth-retarded pregnancies. *Br J Nutr.* 1990;63:613-21.
- 13) Ong CN, Chia SE, Foo SC, Ong HY, Tsakok M, Liouw P. Concentrations of heavy metals in maternal and umbilical cord blood. *Biometals* 1993;6:61-6.
- 14) Wathen NC, Delves TH, Campbell JD, Chard T. The coelomic cavity - A reservoir for metals. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:1884-8.